FLEX
Polyclonal Rabbit
Anti-Human
Thyroglobulin
Ready-to-Use
(Dako Autostainer/Autostainer Plus)

Nº de catálogo IS509

Uso previsto

Para uso en diagnóstico *in vitro*.

FLEX Polyclonal Rabbit Anti-Human Thyroglobulin, Ready-to-Use, (Dako Autostainer/Autostainer Plus), está indicado para su uso en inmunohistoquímica junto con los instrumentos Dako Autostainer/Autostainer Plus. Este anticuerpo es útil en la identificación de tiroglobulina en el tejido tiroideo, y constituye una herramienta útil para identificar los carcinomas tiroideos bien diferenciados (1, 2). La interpretación clínica de los resultados de cualquier tinción, o su ausencia, debe complementarse con estudios morfológicos con controles adecuados y debe evaluarla un anatomopatólogo calificado dentro del contexto de la historia clínica del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Resumen y explicación

La tiroglobulina (Tg) es una glucoproteína con una forma predominante como homodímero de 660 kDa. Los tirocitos sintetizan la Tg, precursora de las hormonas tiroideas, que es transportada a la superficie apical donde se secreta dentro de la luz de los folículos tiroideos y se almacena como componente principal del coloide (>95%). Una proporción menor de Tg se encuentra como monómeros de 330 kDa o como tetrámeros. La reducción o degradación de moléculas de Tg de 660 kDa ó 330 kDa pueden derivar en la formación de polipéptidos menores, algunos de los cuales están presentes en cantidades insignificantes en el coloide. En la conexión entre el coloide y la célula tienen lugar las modificaciones postransicionales de la Tg, que se caracterizan por combinar los residuos de tirosil con el yoduro, lo que forma los residuos de hormona tiroidea dentro de la molécula de Tg. La liberación de la hormona suele requerir la captación de Tg del coloide por parte de los tirocitos y la escisión proteolítica a lo largo de la vía lisosómica (3).

Consulte las *Instrucciones generales para la tinción inmunohistoquímica* de Dako o las instrucciones del sistema de detección de los procedimientos de IHQ para: (1) Principio del procedimiento, (2) Material necesario pero no suministrado, (3) Almacenamiento, (4) Preparación de la muestra, (5) Procedimiento de tinción, (6) Control de calidad, (7) Solución de problemas, (8) Interpretación de la tinción y (9) Limitaciones generales.

Reactivo suministrado

El anticuerpo policlonal de conejo listo para su uso se suministra en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/L de NaN_3.

Inmunógeno

Tiroglobulina humana aislada de glándulas tiroideas humanas.

Especificidad

El anticuerpo marca la Tg humana; las trazas de anticuerpos contaminados se eliminaron mediante absorción de la fase sólida con proteínas plasmáticas humanas.

En la inmunoelectroforesis cruzada con 12,5 µL de anticuerpo concentrado por cm^2 de área de gel contra 2 µL de extracto de glándula tiroidea humana, sólo aparece un precipitado correspondiente a la Tg. Con 2 µL de plasma humano no aparece ningún precipitado. Tinción: Azul brillante de Coomassie.

En cultivos de células tiroideas humanas, el anticuerpo marca la Tg intracelular (4).

Precauciones

1. Para usuarios profesionales.
2. Este producto contiene azida de sodio (NaN_3), un compuesto químico altamente tóxico en su forma pura. Aunque a las concentraciones presentes en el producto no está clasificada como peligrosa, la azida de sodio puede reaccionar con cañerías de plomo y cobre formando acumulaciones de azidas metálicas altamente explosivas. Una vez desechado el producto, deje correr abundante cantidad de agua para evitar acumulaciones de azidas metálicas en las cañerías.
3. Al igual que con cualquier producto de origen biológico, deberán aplicarse los procedimientos de manipulación adecuados.
4. Utilice el equipo de protección personal adecuado para evitar el contacto con los ojos y la piel.
5. La solución que no se utilice deberá desecharse de acuerdo con las normativas locales, provinciales y nacionales.

Almacenamiento

Almacenar a 2–8 ºC. No utilizar después de la fecha de caducidad impresa en el vial. Si los reactivos se almacenan en condiciones diferentes a las especificadas, el usuario deberá comprobar dichas condiciones. No existen signos evidentes que indiquen inestabilidad de este producto. Por lo tanto, los controles positivo y negativo deberán analizarse de manera simultánea con las muestras del paciente. En caso de observarse una coloración inesperada que no puede ser explicada por las variaciones en los procedimientos del laboratorio y se sospeche un problema con el anticuerpo, comuníquese con la asistencia técnica de Dako.

Preparación de las muestras, incluido material necesario pero no suministrado

El anticuerpo puede utilizarse para marcar cortes de tejido fijados con formol e incluidos en parafina. Las muestras de tejido deben cortarse en secciones de aproximadamente 4 µm.

Se requiere el tratamiento previo con recuperación del epítopo inducida por calor (HIER) usando Dako PT Link (nº de catálogo PT100/PT101). Para más detalles, consulte la Guía del usuario de PT Link. Se obtienen resultados óptimos al pretratar los tejidos con EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (nº de catálogo

Dako Denmark A/S | Produktionsvej 42 | DK-2600 Glostrup | Denmark | Tel. +45 44 85 95 00 | Fax +45 44 85 95 95 | CVR No. 33 21 13 17

K8010/K8004).

Cortes incluidos en parafina: se recomienda el tratamiento previo de los cortes de tejido fijados en formol e incluidos en parafina siguiendo el procedimiento de preparación de la muestra 3 en 1 para Dako PT Link. Siga el procedimiento previo al tratamiento explicado en el prospecto de la EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (nº de catálogo K8010/K8004). Nota: Después de la tinción, se deben deshidratar, enjuagar y montar los cortes usando un medio de montaje permanente.

Cortes desparafinados: se recomienda el tratamiento previo de los cortes de tejido desparafinados, fijados en formol e incluidos en parafina usando Dako PT Link y siguiendo el mismo procedimiento descrito para los cortes incluidos en parafina. Tras la tinción, los portaobjetos deben montarse utilizando un medio de montaje acuoso o permanente.

Los cortes de tejido no se deben secar durante el tratamiento ni durante el siguiente procedimiento de tinción inmunohistoquímica. Para una mejor adherencia de los cortes de tejidos a los portaobjetos, se recomienda el uso de FLEX IHC Microscope Slides (nº de catálogo K8020).

Procedimiento de tinción, incluido material necesario pero no suministrado

El sistema de visualización recomendado es EnVision™ FLEX, High pH (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (nº de catálogo K8010). Los pasos de tinción y los tiempos de incubación han sido preprogramados en el software de los instrumentos Dako Autostainer/Autostainer Plus utilizando los siguientes protocolos:
Plantilla del protocolo: FLEXRTU2 (volumen de dispensado de 200 µL) o FLEXRTU3 (volumen de dispensado de 300 µL).
Autoprograma: Thyrog (sin contratinción) o Thyrog (con contratinción).
El paso Auxiliar debe configurarse a “tampón de enjuague” en sesiones de tinción con ≤10 portaobjetos. Para sesiones de tinción con >10 portaobjetos, el paso Auxiliar debe configurarse a “ninguno”. Esto garantiza tiempos de lavado similares.
Todos los pasos de incubación deben realizarse a temperatura ambiente. Consulte el Manual del usuario para más detalles sobre el instrumento correspndiente. Si todavía no están disponibles los protocolos en la plataforma Dako Autostainer utilizada, comuníquese con el servicio técnico de Dako.

Las condiciones óptimas pueden variar según la muestra y el método de preparación, y deberán determinarse individualmente en cada laboratorio. Si el patólogo encargado de la evaluación desea otra intensidad de tinción, se puede solicitar información a un especialista en aplicaciones de Dako o a un especialista del servicio técnico para reprogramar el protocolo. Verifique que el rendimiento del protocolo ajustado siga siendo válido confirmando que el patrón de tinción sea idéntico al descrito en “Características de resultados”.

Se recomienda la contratinción en hematoxicilina usando EnVision™ FLEX Hematoxylin (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (nº de catálogo K8018). Se recomienda un medio de montaje no acuoso permanente.

Los controles positivo y negativo deberán realizarse de manera simultánea empleando el mismo protocolo que para las muestras del paciente. El control positivo de tejido debe incluir glándula tiroidea, y las células/estructuras deben exhibir patrones de reacción como se describe para este tejido en “Características de resultados” en todas las muestras positivas. El reactivo de control negativo recomendado es FLEX Negative Control, Rabbit (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (nº de catálogo IS600).

Interpretación de la tinción

El patrón de tinción celular es citoplasmático y la luz de los folículos tiroideos y la superficie apical de los tirocitos.

Características de resultados

Tejidos normales: El anticuerpo marca la Tg en los folículos tiroideos y en la superficie apical de los tirocitos. La tiroglobulina se encuentra en las células foliculares de la glándula tiroides y, en menor medida, en el tejido intersticial y el estroma tiroideo debido a la filtración normal.

Tejidos anormales: En las glándulas hiperplásicas, se ha detectado la tiroglobulina en folículos y las células glandulares de los folículos más pequeños. Este anticuerpo tiñe los carcinomas papilares, foliculares y medulares que producen múltiples hormonas (5–7). También se ha detectado la tiroglobulina en los carcinomas foliculares de células claras mientras que no se marcaron otras neoplasias de células claras (5, 8). Además son reactivas algunas células fusiformes anaplásicas y de carcinomas de células gigantes. Los sarcomas o los carcinomas metastásicos son negativos (5).

Referencias bibliográficas

1. Albores-Saavedra J, Nadji M, Civantos F, Morales AR. Thyroglobulin in carcinoma of the thyroid: An immunohistochemical study. Hum Pathol 1983;14:62–6.
2. Burt AD, Kerr DJ, Brown IL, Boyle P. Lymphoid and epithelial markers in small cell anaplastic thyroid tumors. J Clin Pathol 1985;38:893–6.
3. Marinò M, McLuskey RT. Role of thyroglobulin endocytic pathways in the control of thyroid hormone release. Am J Physiol Cell Physiol 2000;279:1295–1306.
4. Kayser L, Olsen BE, Høyer PE. Quantitative cytochemical demonstration of intracellular thyroglobulin in cultured human thyrocytes. Effects of fixatives, TSH and interleukin-1α. Histochem J 1991;23:235–40.
5. Albores-Saavedra J, et al. Thyroglobulin in carcinoma of the thyroid. An immunohistochemical study. Hum Pathol 1983; 14:62.
6. LiVolsi V, et al. Anaplastic thyroid tumors. Amer J Clin Pathol 1987; 87:434.
7. Holm R, et al. Medullary thyroid carcinoma with thyroglobulin immunoreactivity. A special entity? Lab Invest 1987; 57:258.
8. Civantos F, et al. Clear cell variant of thyroid carcinoma. Amer J Surg Pathol 1984; 8:187.

Dako Denmark A/S | Produktionsvej 42 | DK-2600 Glostrup | Denmark | Tel. +45 44 85 95 00 | Fax +45 44 85 95 95 | CVR No. 33 21 13 17

Explicación de los símbolos

REF	Referencia	2 °C 8 °C	Limitación de temperatura		Fecha de caducidad
IVD	Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*	Σ	Contiene suficiente para <n> ensayos		Fabricante
	Consulte las instrucciones de uso	LOT	Código del lote		

Dako Denmark A/S | Produktionsvej 42 | DK-2600 Glostrup | Denmark | Tel. +45 44 85 95 00 | Fax +45 44 85 95 95 | CVR No. 33 21 13 17